



DEUTSCHES  
PATENTAMT

21 Aktenzeichen: P 42 03 254.7-33  
22 Anmeldetag: 5. 2. 92  
43 Offenlegungstag: 12. 8. 93  
45 Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung: 2. 5. 96

BH

DE 42 03 254 C 2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

73 Patentinhaber:

Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der  
Wissenschaften eV, 37073 Göttingen, DE; Rohr,  
Gerhard, Dr., 69412 Eberbach, DE

74 Vertreter:

Tiedtke, Bühling, Kinne & Partner, 80336 München

72 Erfinder:

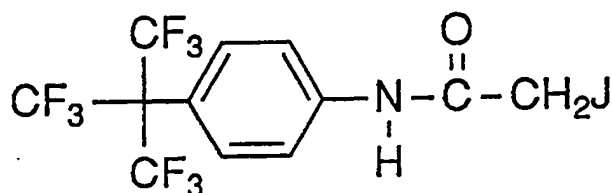
Kalbitzer, Hans-Robert, 6900 Heidelberg, DE; Rohr,  
Gerhard, Dr., 6930 Eberbach, DE; Zimmermann,  
Herbert, 6905 Schriesheim, DE

66 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit  
in Betracht gezogene Druckschriften:

US-Z.: G.A. Volgina, G.E. Kibrik, Yu.I. Rozenberg:  
»Nuclear magnetic resonance and molecular  
mobility in crystalline  $\text{Cl}_3\text{PNC}(\text{CF}_3)_3$ « in: Journal of  
Structural Chemistry, Vol. 20, No. 1, p. 113-115,  
Jan.-Feb. 1979;  
US-Z.: »Biochemistry« 21, 1982, S. 3022-3028;  
US-Z.: »Biochemistry« 25, 1986, S. 2187-2191;  
US-Z.: »Biochemistry« 28, 1989, S. 5895-5901;  
US-Z.: »Biochemistry« 29, 1990, S. 1348-1354;  
Zh.Org.Khim. 9, 1973, S. 649;  
Eur.J.Biochem. 104, 1980, S. 387 ff;

54 Fluorhaltige Markierungsverbindung für NMR-Untersuchungen und deren Verwendung

57 Fluorhaltige Markierungsverbindung für die NMR-Unter-  
suchung molekularer Untersuchungsobjekte, dadurch ge-  
kennzeichnet, daß die Markierungsverbindung Perfluoro-ter-  
tiär-butyl als Struktureinheit enthält.



DE 42 03 254 C 2

Die Erfindung betrifft fluorhaltige Markierungsverbindungen für die NMR-Untersuchung molekularer Untersuchungsobjekte, deren Verwendung für die Herstellung modifizierter Biomoleküle sowie deren Verwendung für die kernmagnetische Resonanzspektroskopie oder die Kernspin-Tomographie.

Sowohl aufgrund der geringen Häufigkeit in biologischen Systemen als auch aufgrund der hohen Sensitivität der Resonanzsignale und des großen Bereichs bezüglich der chemischen Verschiebung in der kernmagnetischen Resonanz-Spektroskopie (im folgenden wird die kernmagnetische Resonanz mit NMR abgekürzt), ist das  $^{19}\text{F}$ -Atom hervorragend für Untersuchungen in biologischen Systemen mittels NMR-Methoden geeignet.

Um biologische Systeme einer Untersuchung durch die  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektroskopie zugänglich zu machen, müssen Fluor-Atome über spezielle Markierungsverbindungen in das biologische System eingeführt werden, in dem dann die Markierungsverbindung der NMR-Signalgebung dient.

In der Vergangenheit wurden solche Fluor-markierten Verbindungen in Proteine eingebaut, um über die Markierungs-Verbindung als Signalgeber mittels der NMR-Spektroskopie Informationen über Kinetik, Reaktionsmechanismus, intra- und intermolekulare Wechselwirkungen und/oder Konformationsänderungen des Proteins zu erhalten.

So wurden zu diesem Zweck von J.W. Shriver und B.D. Sykes, *Biochemistry* 21, S. 3022–3028 (1982), N-[4-(Trifluoromethyl)-phenyl]-jodacetamid zur Markierung von Myosin an einer reaktiven SH-Gruppe des Proteins verwendet, während von M. Brauer und B. D. Sykes, *Biochemistry* 25, S. 2187–2191 (1986) 3-Brom-1,1,1-trifluorpropan zur Markierung von Actin verwendet wurde. Weitere Beispiele von  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektroskopie Markierungsverbindungen und deren Anwendung zu Protein-Untersuchungen werden beschrieben von J. A. Barden et al., *Biochemistry* 28, S. 5895–5901 (1989), wobei neben dem 3-Brom-1,1,1-trifluorpropan auch das (Trifluoromethyl)-Quecksilberbromid angewendet wurde, und von J. A. Barde und L. Philips, *Biochemistry* 29, S. 1348–1354 (1990), von denen Pentafluorophenyl-isothiocyanat und [m-(Trifluoromethyl)phenyl]-Quecksilberbromid zur Markierung eingesetzt wurden.

Alle diese NMR-Markierungsverbindungen besitzen jedoch den Nachteil, daß die NMR-Nachweisempfindlichkeit relativ gering ist, so daß bei  $^{19}\text{F}$ -NMR-Untersuchungen die erforderliche Substanzmenge relativ hoch ist oder sensitivere Untersuchungen schlecht möglich sind.

Demnach bestand die Aufgabe der Erfindung, für die NMR-Untersuchung molekularer Untersuchungsobjekte eine fluorhaltige Markierungsverbindung zur Verfügung zu stellen, die eine im Vergleich zu herkömmlichen  $^{19}\text{F}$ -NMR-Markierungsverbindungen höhere Sensitivität aufweist.

Die Aufgabe wird dadurch gelöst, daß die Markierungsverbindung Perfluoro-tertiär-butyl als Struktureinheit enthält.

Aus dem wissenschaftlichen Aufsatz von G. A. Volgina et al., *Journal of Structural Chemistry*, Vol. 20, Nr. 1, S. 113–115, 1979, ist zwar eine Verbindung mit Perfluoro-tertiär-butyl als Struktureinheit bekannt, nämlich  $\text{Cl}_3\text{PNC}(\text{CF}_3)_3$ . Diese Verbindung dient jedoch nur zur NMR-Untersuchung der Perfluoro-tertiär-butylgruppe

selbst. Keinesfalls dient sie als Markierungsverbindung für die NMR-Untersuchung molekularer Untersuchungsobjekte.

Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen wiedergegeben. Weitere Gegenstände der Erfindung sind die Verwendung der erfindungsgemäßen Markierungsverbindung für die Herstellung modifizierter bzw. markierter Biomoleküle und die Verwendung für NMR-Methoden, wie die NMR-Spektroskopie und die Kernspin-Tomographie.

Ausführungsbeispiele der Erfindung werden anhand der Figuren näher erläutert. Es zeigt

Fig. 1 die Struktur von 4-Perfluoro-tert-butyl-phenyl-jodacetamid (PFP),

Fig. 2 das  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von PFP,

Fig. 3 das  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von PFP-markiertem G-Actin und

Fig. 4  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektren in Abhängigkeit der Zeit im Laufe der Polymerisation von PFP-markiertem G-Actin zu F-Actin.

Durch den Perfluoro-tert-butyl-Rest enthält die Markierungsverbindung mindestens 9 Fluoratome, die an äquivalenten Positionen lokalisiert sind. Weiterhin sind diese 9 Fluoratome nicht direkt von Atomen mit Kernspin wie Wasserstoff-Protonen benachbart, so daß keine Spin-Spin-Wechselwirkung (J-Kopplung) auftritt. Im Resultat ergibt sich aus dieser Struktureinheit des Moleküls eine einzige, homogene scharfe Kernspin-Resonanzlinie mit hoher Intensität.

Die erfindungsgemäße Markierungsverbindung kann einen Perfluoro-tert-butyl-Rest enthalten. Sie kann aber auch mehrere Perfluoro-tert-butyl-Reste enthalten, um die Sensitivität der Markierungsverbindung weiter zu erhöhen.

Die erfindungsgemäße Markierungsverbindung kann insbesondere noch weitere Fluoratome enthalten, die ihrerseits wieder an äquivalenten Positionen im Sonden-Molekül lokalisiert sind und vorzugsweise nicht von Atomen mit Kernspin benachbart sind.

Der bzw. die Perfluoro-tert-butyl-Rest(e) kann bzw. können an jede beliebige organische Verbindung gebunden sein. Vorzugsweise ist der Perfluoro-tert-butyl-Rest an einen Phenylrest gebunden, wobei die Wasserstoffatome des Phenylrests derivatisiert sein können. Insbesondere enthält die erfindungsgemäße Markierungsverbindung 4-(Perfluoro-tert-butyl)phenyl als Struktureinheit.

Weitere geeignete organische Verbindungen umfassen allgemein Kunststoff-Monomere und -Polymere.

Eine weitere bevorzugte Ausgestaltung der Erfindung besteht darin, daß die Markierungsverbindung strukturelle Einheiten enthält, um die Markierungsverbindung einer sogenannten "Reporter"-Funktion in biologischen Systemen zugänglich zu machen. So kann bzw. können Perfluoro-tert-butyl-Rest(e) an Biomoleküle gebunden sein, wobei natürliche oder auf chemische Weise synthetisch geänderte Biomoleküle verwendet werden können. Als Biomoleküle eignen sich beispielsweise Enzymsubstrate, Aminosäuren, Polypeptide, Proteine bzw. Enzyme, in biologischen Systemen regulierende Faktoren wie Hormone und sogenannte "Biological Response Modifiers"; weiterhin Antigene bzw. Haptene, Antikörper, Nucleotide, Oligonucleotide, Nucleinsäuren (RNA, DNA), Polysaccharide, Lipide und dergleichen, sowie für die biologische Funktion der Biomoleküle wesentliche Bestandteile dieser Biomoleküle.

Wenn der bzw. die Perfluoro-tert-butyl-Rest(e) an solche Biomoleküle gekoppelt ist bzw. sind, können die-

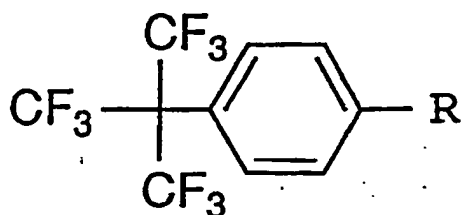
se Konjugate selbst als Markierungsverbindung, beispielsweise als Detektions-Marker in Nachweis-Reaktionen, dienen. Auf diese Weise können beispielsweise bestimmte antigene Strukturen von Perfluoro-tert-butyl-markierten Antikörpern nachgewiesen werden.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung besteht darin, daß die Markierungsverbindung mindestens eine Struktureinheit enthält, die entweder eine funktionelle Gruppe ist, wie beispielsweise eine Amino-, Thiol-, Carboxy-, Hydroxygruppe, oder die eine auf solche funktionelle Gruppen reaktive Struktureinheit ist, wobei als  $\text{NH}_2$ -reaktive Struktureinheiten beispielsweise Isothiocyanat- oder N-Hydroxysuccinimidestergruppen, als SH-reaktive Struktureinheiten beispielsweise Quecksilber enthaltende Gruppen (wie  $-\text{HgBr}$ ), N-Maleimidogruppen, Halogenoacetyl- oder Halogenoacetamidgruppen, wobei das Halogen vorzugsweise Brom oder Jod ist, als COOH-reaktive Struktureinheiten beispielsweise Carbodiimid-aktivierte Aminogruppen und als OH-reaktive Struktureinheiten beispielsweise aktivierte Säureester geeignet sind.

Gemäß dieser letztgenannten Ausführungsform der Erfindung kann dann, falls die erfindungsgemäße Markierungsverbindung nicht bereits per se entsprechend gewünschte strukturelle Einheiten enthält, der bzw. die Perfluoro-tert-butyl-Rest(e) nach Wahl an beliebige Verbindungen, wie Kunststoff-Monomere und -Polymere sowie die oben bereits genannten, natürlichen oder halb-synthetischen Biomolekülen unter milden Bedingungen gebunden bzw. gekoppelt werden, so daß eine mit einem oder mehreren Perfluoro-tert-butyl-Rest(en) modifizierte bzw. markierte Verbindung erhalten wird.

Die Kopplung der gemäß der Erfindung Perfluoro-tert-butyl-Rest(e) enthaltenden Markierungsverbindung an eine der gewünschten Verbindungen erfolgt dabei über die funktionelle Gruppe des einen Moleküls und die entsprechenderweise auf diese funktionelle Gruppe reaktive Struktureinheit des anderen Moleküls. Wenn sowohl einerseits die erfindungsgemäße Markierungsverbindung als auch andererseits die zu markierende Verbindung funktionelle Gruppen enthalten, erfolgt die Kopplung geeigneterweise über entsprechende homo- oder heterobifunktionelle Vernetzungsreagentien.

Eine  $^{19}\text{F}$ -NMR-Markierungsverbindung mit folgender Struktur ist als Kopplungssubstanz zur Modifizierung bzw. Markierung verschiedenartiger Verbindungen mit reaktiven Amino- und/oder Thiolgruppen besonders gut geeignet:



worin  $-\text{R}$  gleich  $-\text{N}=\text{C}=\text{S}$  oder  $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{X}$  ist, wobei  $\text{X} =$  Halogen, vorzugsweise Br oder J, insbesondere J ist.

Gemäß der Erfindung wird die Perfluoro-tert-butyl-enthaltende Markierungsverbindung für NMR-Methoden, insbesondere die kernmagnetische Resonanz-Spektroskopie und die Kernspin-Tomographie, verwendet. In biologischen Systemen bzw. für den biochemi-

schen oder medizinischen Bereich kann die erfindungsgemäße Markierungsverbindung als Nachweisreagenz dienen. Die vielfache Verstärkung des  $^{19}\text{F}$ -NMR-Signals durch die Einführung von mindestens 9 äquivalenten Fluoratomen ermöglicht die Detektion der Markierung, und gegebenenfalls die Detektion einer mit der Markierung markierten Verbindung, wie beispielsweise den oben erwähnten Biomolekülen, in sehr geringen Mengen.

Mit der erfindungsgemäßen Markierungsverbindung ist es auch möglich, zeitabhängige und/oder zeitunabhängige strukturelle Veränderungen oder enzymatische Prozesse zu verfolgen oder Wechselwirkungen zwischen Molekülen zu studieren. Weiterhin können Polymerisationsreaktionen, sowohl in biologischen Systemen als auch bei der Herstellung synthetischer Polymere, untersucht werden.

Ein sehr attraktives Einsatzgebiet ist die Verwendung von mit Perfluoro-tert-butyl-Rest(en) modifizierten, spezifischen Antikörpern in der Kernspin-Tomographie, um über die Antikörper-Bindungen an entsprechende Bindungsstellen Tumoren oder Abszesse zu identifizieren.

Die Erfindung wird nachstehend anhand von Beispielen näher beschrieben.

### Beispiel 1

#### Synthese von (4-Perfluoro-tert-butyl)-anilin und 4-Perfluoro-tert-butyl-phenyljodacetamid (PFP) sowie $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum von PFP

(4-Perfluoro-tert-butyl)-anilin wurde durch Reduktion aus p-Nitro-(perfluoro-tert-butyl)-benzol nach L. M. Yagupolskii et al., Zh. Org. Khim. 9, S. 649 ff. (1973) hergestellt. Hierzu wurden 17,6 g  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  in 13 ml konzentrierter HCl langsam zu einer Lösung von 7,5 g p-Nitro-(perfluoro-tert-butyl)-benzol in 30 ml Methanol zugegeben. Das Amin-Rohprodukt wurde durch langsame Zugabe von 60 ml einer 50%igen Natriumhydroxydlösung, gefolgt von wiederholter Extraktion mit Diethylether, isoliert. Die Etherlösung wurde zweimal mit Wasser gewaschen und über Calciumsulfat getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand aus Pentan umkristallisiert, um das gewünschte (4-Perfluoro-tert-butyl)-anilin mit einem Schmelzpunkt von  $62^\circ\text{C}$  in 80% Ausbeute zu erhalten.

Zur Synthese des in der Fig. 1 dargestellten PFP wurden 1,53 g Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) in 20 ml Ethylacetat unter Rühren bei Raumtemperatur langsam zu in 15 ml Ethylacetat gelösten 27 g Jodessigsäure zugegeben. Nach 2 h wurde das Präzipitat abgelfert, und 2,26 g (4-Perfluoro-tert-butyl)-anilin wurden zu der Lösung des aktivierten Jodessigsäureanhydrids gegeben. Die Mischung wurde 2 h gerührt, wonach das Lösungsmittel entfernt wurde und der Rückstand in Benzol gelöst wurde. Nach wiederholter Extraktion mit 0,1 N NaOH wurde die Benzollösung über Natriumsulfat getrocknet und dann, zuletzt im Vakuum, eingedampft. Der Rückstand wurde zweimal als Chloroform und n-Pentan auskristallisiert. Das PFP-Produkt hat einen Schmelzpunkt von  $163^\circ\text{C}$ ; die Dünnschichtchromatographie (Kieselgel/Methylenchlorid : n-Hexan 9 : 1) zeigt einen einzelnen Fleck. Die Massenspektroskopie zeigt Mz-Werte von 479 (100%), 460 (10%), 324 (16%) und 311 (96%), entsprechend zu  $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{F}_9\text{N} = 479$ . Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (Acetonitril- $\text{D}_2\text{O}$  (1 : 1)) ergab das für die Phenyl-jodacetamid-Gruppe erwartete Signal-

muster.

Das in Fig. 2 dargestellte  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum (Bruker AM-500 NMR-Spektrometer; 470,5 MHz; 308° K) von PFP in Acetonitril- $\text{D}_2\text{O}$  (1 : 1) zeigt eine einzige Resonanzlinie mit einer Linienbreite von 2,4 Hz bei einer chemischen Verschiebung von 16,05 ppm gegenüber Trifluorethanol als internem Standard.

### Beispiel 2

#### Modifizierung bzw. Markierung von Actin mit PFP

Gemäß H. G. Mannherz et al., Eur. J. Biochem. 104, 367 ff. (1980) aus skelettalem Kaninchenmuskel isoliertes F-Actin wurde in Puffer A (0,1 M KCl, 10 mM Tris-HCl, pH 8,0, 0,2 mM ATP, 0,2 mM  $\text{CaCl}_2$  und 0,01 mM  $\text{NaN}_3$ ) gelöst. Die in Dimethylformamid gelöste NMR-Markierungsverbindung PFP wurde nach und nach mit Puffer A so verdünnt, daß eine Endkonzentration an Dimethylformamid von weniger als 0,5% erhalten wurde. Die verdünnte Markierungsverbindung wurde tropfenweise unter Rühren zu der F-Actinlösung zugegeben, um einen 10fachen molaren Überschuß der Markierungssubstanz über Actin zu erhalten. Nach Inkubation für 24 h bei 0° C wurde die Mischung bei 150 000 g für 1,5 h zentrifugiert, und das F-Actin-Pellet wurde in 2 mM Tris-HCl, pH 7,8, 0,2 mM ATP, 0,2 mM  $\text{CaCl}_2$ , 0,01 mM  $\text{NaN}_3$  homogenisiert. Das Homogenat wurde dann extensiv gegen eine Pufferlösung von 5 mM HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazin-sulfonsäure), 2 mM ATP, 0,2 mM  $\text{CaCl}_2$ , 0,5 mM  $\text{NaN}_3$  dialysiert, um depolymerisiertes F-Actin zu erhalten.

### Beispiel 3

#### NMR-spektroskopische Untersuchungen an PFP-markiertem Actin

Fig. 3 zeigt ein  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum (gleiche NMR-Meßbedingungen wie in Beispiel 1) von PFP-markiertem, monomeren G-Actin (MG 42 000) bei einer Proteinkonzentration von 74  $\mu\text{M}$  in 4 mM Hepes, 1,8 mM ATP, 0,16 mM  $\text{CaCl}_2$ , 0,4 mM  $\text{NaN}_3$  (Meßvolumen 2,5 ml Wasser mit 20%  $\text{D}_2\text{O}$ ). Eine Integration über 1000 Scanläufe bei exponentieller Linienverbreiterung von 5 Hz (Fig. 3 oben) zeigt eine Gruppe von Fluor-Signalen zwischen 13,5 und 13,8 ppm mit Linienbreiten von etwa 9 Hz, die eine intensivste Linie A bei 13,67 ppm und vier weitere Resonanzlinien (Linie B bei 13,59 ppm, Linie C bei 13,61 ppm, Linie D bei 13,75 ppm und Linie E bei 13,72 ppm) mit schwächeren Intensitäten umfaßt. Das Verhältnis der Intensitäten der Linien B, C, D und E relativ zur Linie A beträgt, in dieser Reihenfolge, 0,4, 0,2, 0,06 und 0,04. Bei der Proteinkonzentration von 74  $\mu\text{M}$  sind die drei intensivsten Linien bereits nach einem einzigen Scanlauf (exponentielle Linienverbreiterung 5 Hz) eindeutig zu erkennen (Fig. 3 unten). Aus diesen Daten kann abgeschätzt werden, daß bei hintereinander ausgeführten Scanläufen des  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrums mit Akkumulationszeiten von etwa einer Stunde das mit der erfindungsgemäßen  $^{19}\text{F}$ -NMR-Markierungsverbindung markierte G-Actin noch in einer Konzentration im Bereich von 1  $\mu\text{M}$ , entsprechend 0,4 nMol in 2,5 ml Meßvolumen, detektiert werden kann.

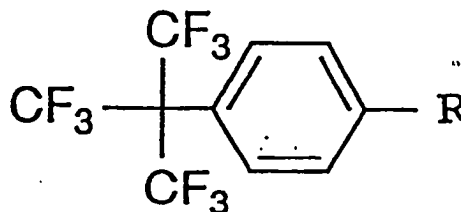
Die 5 erhaltenen Resonanzlinien von mit PFP markiertem G-Actin korrespondiert mit der Zahl der an den Aminosäure-Positionen 10, 217, 257, 285 und 374 lokalisierten Cystein-Resten des Proteins, wobei die unter-

schiedlichen chemischen Verschiebungen von unterschiedlichen chemischen Umgebungen dieser Cystein-Reste im Actin-Molekül herrühren dürften. Die unterschiedlichen Intensitäten der Resonanzlinien sind durch die unterschiedlichen Zugänglichkeiten der genannten Cystein-Reste erklärbar. Es ist nämlich bekannt, daß Cys-374 im sphärischen Proteinmolekül frei zugänglich ist, während Cys-10 und Cys-257 weniger zugänglich sind, und Cys-217 und Cys-285 ganz im Proteininneren begraben sind.

Die Polymerisation von PFP-markiertem G-Actin zu F-Actin wurde durch Zugabe von 30 mM KCl bewirkt, und der Fortgang der Polymerisation wurde durch  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektren (100 Scanläufe pro Spur, entsprechend einer Aufzeichnungszeit von 2,7 min pro Spektrum; exponentielle Linienverbreiterung 4 Hz) in Abhängigkeit der Zeit untersucht. Wie Fig. 4 zeigt, verbreitern sich die Resonanz-Linien der Markierungsverbindung im Laufe der Zeit, während die Signale gleichzeitig kleiner werden, bis diese nach 30 min vollständig verschwunden sind. Genau dieses Ergebnis ist bei der ablaufenden Polymerisation zu erwarten, da im Laufe der Polymerisation die Markierungsverbindung im Makromolekül immobilisiert wird und keine freie Rotation der Markierungsmoleküle an den Markierungsstellen des Actins möglich ist, d. h. die effektive Rotations-Korrelationszeit stark zunimmt. Die Resonanz-Linienbreite (und -Intensität) ist also ein Maß für die effektive Rotations-Korrelationszeit der Markierungsmoleküle und damit für die Struktur bzw. den Polymerisationsgrad des Actins.

### Patentansprüche

1. Fluorhaltige Markierungsverbindung für die NMR-Untersuchung molekularer Untersuchungsobjekte, dadurch gekennzeichnet, daß die Markierungsverbindung Perfluoro-tertiär-butyl als Struktureinheit enthält.
2. Fluorhaltige Markierungsverbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Markierungsverbindung 4-(Perfluoro-tertiär-butyl)-phenyl als Struktureinheit enthält.
3. Fluorhaltige Markierungsverbindung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Markierungsverbindung weitere Fluoratome an äquivalenten Positionen enthält.
4. Fluorhaltige Markierungsverbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Markierungsverbindung weiterhin mindestens eine funktionelle Gruppe enthält.
5. Fluorhaltige Markierungsverbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Markierungsverbindung weiterhin mindestens eine auf funktionelle Gruppen reaktive Struktureinheit enthält.
6. Fluorhaltige Markierungsverbindung nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch folgende Struktur



worin — R gleich —N=C=S oder —NH—CO—CH<sub>2</sub>—X, wobei X = Halogen, vorzugsweise Br oder J, insbesondere J ist.

7. Fluorhaltige Markierungsverbindung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Markierungsverbindung als weitere Struktureinheit ein Biomolekül enthält. 5

8. Fluorhaltige Markierungsverbindung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Markierungsverbindung als weitere Struktureinheit ein Kunststoff-Monomer oder ein Kunststoff-Polymer enthält. 10

9. Verwendung der fluorhaltigen Markierungsverbindung nach einem der vorhergehenden Ansprüche für die kernmagnetische Resonanz-Spektroskopie. 15

10. Verwendung der fluorhaltigen Markierungsverbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 für die Kernspin-Tomographie. 20

11. Verwendung der fluorhaltigen Markierungsverbindung nach einem der Ansprüche 4 bis 6 für die Herstellung modifizierter Biomoleküle oder für die Herstellung modifizierter Kunststoff-Monomere und Kunststoff-Polymere. 25

---

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

---

30

35

40

45

50

55

60

65

Fig. 1

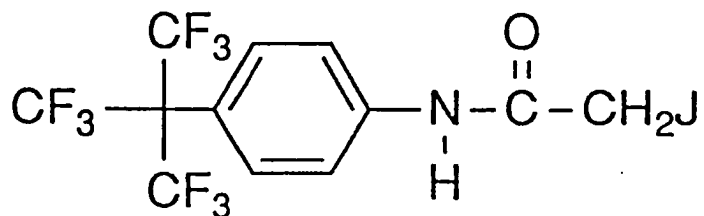


Fig. 2

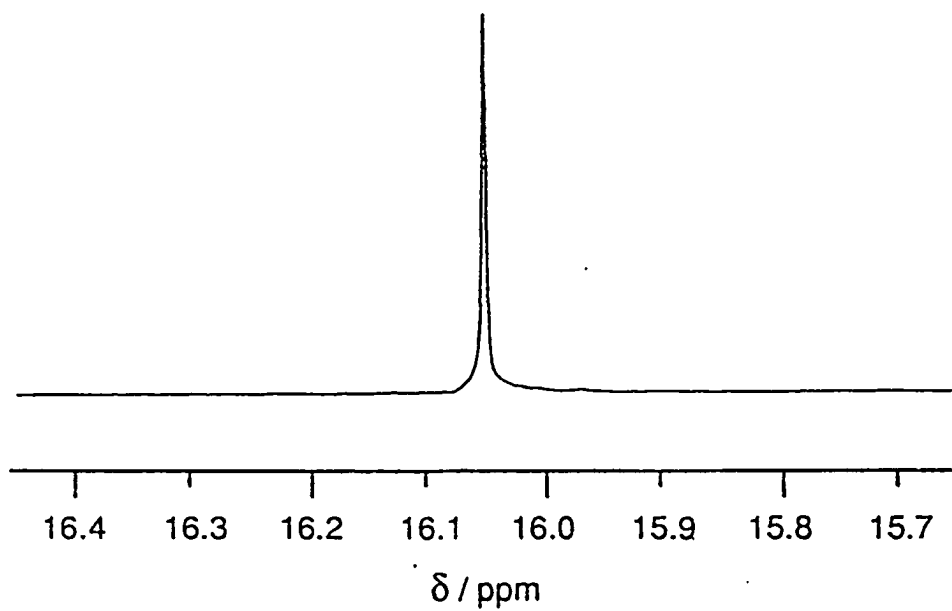


Fig. 3

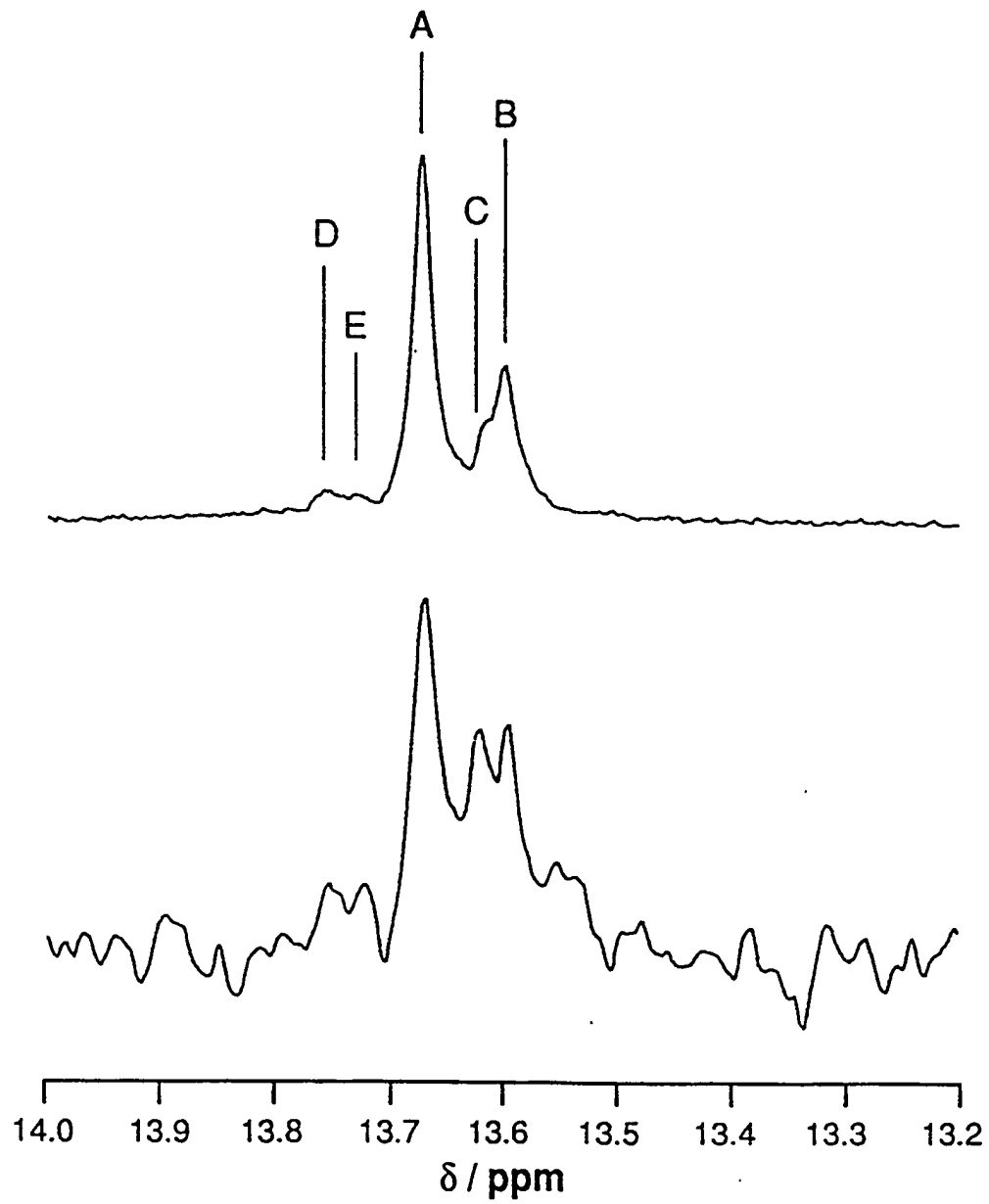


Fig. 4

